

# Analyse de l'ADN environnemental

# - Contexte HEM -

Inventaire piscicole et détection de l'écrevisse à pattes blanches (Austropotamobius pallipes)



# Sommaire

Som	maire		1						
Tabl	e des	illustrations	2						
ı.	Intro	Introduction							
II.	Prése	résentation du contexte et enjeux							
	II.1.	Le contexte Hem	4						
	II.2.	Les objectifs	5						
	II.3.	Les principales espèces à enjeux	6						
		II.3.1. Les grands migrateurs	6						
		II.3.2. L'écrevisse à pattes blanche	8						
III.	Maté	riel et méthode	10						
	III.1.	Eléments de définitions	. 10						
	III.2.	Protocole d'échantillonnage ADNe	. 11						
	III.3.	Sites de prélèvements	11						
IV.	Résul	ltats	14						
	IV.1.	Approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique	. 15						
		IV.1.1. Vue d'ensemble sur le bassin versant de la Hem	15						
		IV.1.2. Analyse stationnelle	. 18						
		IV.1.3. Evolution longitudinale	25						
	IV.2.	Approche mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches	27						
V.	Discu	ssion & Perspectives	28						
	V.1.	Comparaison avec les données antérieures	28						
	V.2.	Entrave à la continuité écologique : l'écluse 63-bis de Gravelines	32						
	V.3.	Détection de l'écrevisse à pattes blanches	33						
VI.	Concl	lusion	34						
VII.	Biblio	ographie & webographie	35						
VIII	Δnne	298	37						

# Table des illustrations

Figure 1 : Localisation du site d'étude	4
Figure 2 : Photographie d'un saumon atlantique échantillonnée dans l'Authie en 2013	6
Figure 3 : Photographie d'une truite de mer échantillonnée dans la Canche en 2015	7
Figure 4 : Photographie d'une anguille européenne	7
Figure 5 : Photographies d'une lamproie marine (à gauche) et de lamproies fluviatiles (à droite)	8
Figure 6 : Photographie d'Austropotamobius pallipes (© David Gerke)	
Figure 7 : Répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France en 2014. Source : ONEMA	9
Figure 8 : Schéma explicatif de l'analyse de l'ADNe ©Spygen	10
Figure 9 : Localisation des points de prélèvements	12
Figure 10 : Planche photographique des sept stations de prélèvements sur la Hem et ses affluents	13
Figure 11 : Résultats de la station HEM-1	18
Figure 12 : Résultats de la station HEM-2	19
Figure 13 : Résultats de la station HEM-3	20
Figure 14 : Résultats de la station HEM-4	21
Figure 15 : Résultats de la station HEM-5	22
Figure 16 : Résultats de la station HEM-6	23
Figure 17 : Résultats de la station HEM-7	24
Figure 18 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADN	le par
station	25
Figure 19 : Abondance relative du nombre de séquence ADN de chaque espèce détectée, pour l'ensem	ıble des
stations	26
Figure 20 : Nombre de séquence d'ADN a. : d'Anguille (Anguilla anguilla) ; b. : de Lamproie de rivière et	t de
Planer (Lampetra sp) ; c. : de Truite fario ou truite de mer (Salmo trutta), et le nombre de réplicas posi	tifs
correspondant pour l'ensemble des stations de l'axe Hem (barres d'histogramme pleines) et affluent (l	barres
d'histogramme ajourées)	26
Figure 21 : Résultats de l'analyse mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches ( <i>Austropotamobius</i>	
Figure 22 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADN	
station, et par pêche électrique sur les stations à proximité	
Figure 23 : Photographie de flet pêché sur la Basse Meldyck sur la commune de Blendecques (62)	29
Figure 24 : CPUE (Nombre d'anguille par point) pour les 3 stations du suivi lors des différentes campagr	າes 30
Figure 25 : Localisation des frayères à lamproie marine et fluviatile recensé de 2010 à 2016, en 2017 et	en 2019
sur la Hem (FDAAPPMA62)	
Figure 26 : Capture de la vidéo du passage d'une lamproie marine au riverwatcher de Mourlinghen sur	-
le 13 juin 2020	
Figure 27 : Localisation des frayères à grands salmonidés recensés de 2010 à 2016, en 2017 et en 2019	
Hem (FDAAPPMA62)	32
Tableau 1 : Récapitulatif des mesures de gestion du PLAGEPOMI dans lesquels s'inscrit cette étude	
Tableau 2 : Sites de prélèvements	12
Tableau 3 : Limites d'identification de certains taxons	
Tableau 4 : Liste des espèces piscicoles détectées par l'ADNe sur le bassin de la Hem	
Tableau 5 : Tendances globales de la population piscicole de la Hem obtenues à l'aide de l'ADNe	16
Tableau 6 : Listes des espèces patrimoniales détectées sur la Hem et leurs statuts de conservation	
Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station	25

#### I. Introduction

La Hem, cours d'eau du Pas-de-Calais, est fréquentée par l'ensemble des espèces de poissons migrateurs présentes dans le bassin Artois-Picardie. Ces espèces nécessitent de pouvoir migrer entre la mer du Nord et l'amont du bassin de la Hem afin de réaliser l'ensemble de leur cycle biologique.

Ces déplacements sont souvent rendus difficiles voire impossibles, par les obstacles à la migration en travers des cours d'eau et des canaux (barrages, seuils, écluses de navigation...).

Ces dernières années et notamment depuis 2015, conformément à l'article 214.17 du code de l'environnement, d'importants aménagements ont été réalisés sur le bassin de la Hem en faveur de la continuité écologique. L'arasement d'ouvrages et la création de dispositifs de franchissement ont permis de restaurer la libre circulation piscicole et le transit sédimentaire.

Afin d'apprécier l'efficacité des travaux de rétablissement de la continuité écologique, mais aussi dans un souci d'amélioration de la connaissance, conformément au PDPG (Plan Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais, 2018-2022) et au PLAGEPOMI (Plan de Gestion des Poissons Migrateurs du bassin Artois-Picardie, 2015-2021), plusieurs suivis biologiques complémentaires concernant les espèces migratrices amphihalines ont déjà été mis en place : réseau de suivi par pêche électrique, études télémétriques, stations de comptage, suivis des frayères...

C'est dans ce cadre qu'est intervenue la Fédération de Pêche du Pas-de-Calais en juin 2020, avec la réalisation d'un inventaire piscicole sur le bassin de la Hem via le déploiement de l'analyse de l'ADN environnemental. Cette méthode a été sélectionnée pour son approche non intrusive, rapide, nécessitant uniquement un prélèvement d'eau, et relativement exhaustive pour un linéaire échantillonné.

En effet lors de la mise en place d'inventaires piscicoles traditionnels par pêche à l'électricité, des interrogations peuvent rester en suspens quant à la détection de certaines espèces cibles plus difficiles à échantillonner que d'autres (notamment les ammocètes de Lamproies) à cause de leurs bio-écologies singulières, la difficulté d'accès des sites qu'elles occupent ou leurs effectifs réduits. L'étude de l'ADN environnementale peut permettre de palier à ces biais (Taberlet et al., 2012, Jean, 2013). De nombreux retours d'expériences prometteurs existent sur la faune aquatique : poissons, amphibiens, mammifères aquatiques, mollusques et certains crustacés (Ficetola et al. 2008, Pawlowski et al., 2020; Poulet et Basilico, 2019).

La présente étude réalisée en partenariat avec le laboratoire SpyGen basé à Le Bourget du Lac (73375) permettra d'acquérir des données biologiques importantes, notamment au niveau de la localisation des espèces migratrices. Cela permettra d'apprécier le gain écologique induit par les travaux de restauration de la continuité écologique, mais également de pouvoir orienter les futures prospections de frayères. Ces données pourront également mettre en évidence l'éventuelle présence de l'Ecrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*), espèce autochtone protégée dont la présence sur le bassin versant n'est actuellement pas connue.

#### II. Présentation du contexte et enjeux

#### II.1. Le contexte Hem

La Hem (Figure 1), d'une longueur de 26 km, prend source sur les communes de Surques et Escoeuilles à une hauteur moyenne de 115m. Ancien affluent direct de l'Aa, la Hem se sépare aujourd'hui en deux bras sur sa partie aval. Elle rejoint le canal de Calais à Saint-Omer via le Meulestroom et rejoint l'Aa canalisée via le Tiret en rive droite.

Les principaux affluents de la Hem sont situés sur sa partie amont, le Loquin qui conflue en rive droite et le Sanghen qui conflue en rive gauche. La Hem est principalement alimentée par les nappes de la Craie, qui lui confèrent des fluctuations de débits saisonniers assez faibles (module interannuel = 1,5 m3/s à Tournehem sur la Hem; hydro.eaufrance.fr). Elle est cependant régulièrement soumise à des crues hivernales qui peuvent être importantes, sous l'effet de forts épisodes de précipitations et des nappes phréatiques saturées d'eau.

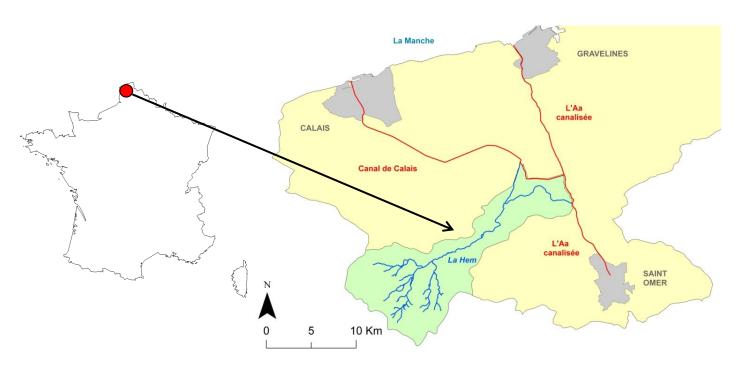


Figure 1 : Localisation du site d'étude

Le calcul du NTT (niveau typologique théorique ; Verneaux, 1977) classe l'ensemble de la Hem et son chevelu en zone à Truites. Le Meulestroom est quant à lui considéré comme une zone à Ombres (Atlas cartographique du PDPG 2.0 – Carte n°2).

La Hem est fréquentée par de nombreuses espèces piscicoles typiques des milieux à courants vifs : la truite fario (Salmo trutta fario), le chabot commun (Cottus gobio), le vairon commun (Phoxinus phoxinus), la lamproie de planer (Lampetra planeri) ...; mais également par plusieurs espèces migratrices dont l'anguille européenne (Anguilla anguilla) et les lamproies marines (Petromyzon marinus) et fluviatiles (Lampetra fluviatilis). La truite de mer (Salmo trutta trutta) est, elle aussi, bien

présente sur le bassin et la présence de géniteurs de saumons atlantique (Salmo salar) a été confirmée par l'échantillonnage de juvéniles (tacons).

Ces espèces restent dépendantes des possibilités de migration pour réaliser l'ensemble de leur cycle biologique, que ce soit entre la Mer du Nord et l'aval du bassin de la Hem via l'Aa canalisée, ou entre l'aval de la Hem et les zones de reproduction majoritairement localisées en tête de bassin. La colonisation du bassin par les espèces migratrices amphibalines est possible depuis Gravelines où le réseau canalisé peut être rejoint après le franchissement de deux écluses (Vauban et 63 bis). L'écluse Vauban est ouverte la majeure partie du temps, et le pertuis rive droite de l'écluse 63 bis a été équipé d'une vantelle en 2015 afin de favoriser la continuité écologique.

Sur la Hem, la migration était limitée jusqu'en 2016 par l'ouvrage de Polincove, partiellement franchissable par les grands salmonidés, et surtout par l'ouvrage infranchissable de Recques-sur-Hem (front de migration). Les travaux réalisés depuis 2016 sur un bon nombre d'ouvrages du bassin versant de la Hem ont permis de restaurer la continuité écologique sur plus d'une vingtaine de kilomètres, ouvrant l'accès à deux affluents : le Loquin et l'Alquines. L'ancien front de migration a alors été déplacé en trois nouveaux fronts : le moulin d'Audenfort sur l'axe Hem, l'ouvrage du moulin du Poirier à Audrehem sur l'Alquines, et l'ouvrage de l'ancien moulin du Bas-Loquin à Haut-Loquin sur le Loquin (SYMVAHEM et PNR des caps et marais d'Opale, 2019).

Par ailleurs, l'arasement des ouvrages a permis l'apparition de nouvelles zones de frayères via la suppression des effets biefs induits par les barrages et la recréation de faciès d'écoulements plus favorables à la reproduction des lamproies et des grands salmonidés.

#### **II.2.Les objectifs**

L'inventaire des populations piscicoles du contexte Hem va permettre d'améliorer les connaissances sur les populations et d'apprécier le gain écologique induit par les récents travaux de restauration de la continuité écologique. Cette étude s'inscrit alors dans les objectifs du PLAGEPOMI (Tableau 1). Par ailleurs, suite à des signalements récents de présence de l'écrevisse à pattes blanches (Austropotamobius pallipes) dans le département, la recherche de celle-ci en amont du contexte, permettra d'orienter les investigations futures dans le cadre du réseau écrevisse de l'OFB.

Tableau 1: Récapitulatif des mesures de gestion du PLAGEPOMI dans lesquels s'inscrit cette étude

Mesures de gestion du PLAGEPOMI				
Protection et restauration des habitats	M5 : Evaluer les aménagements			
	C4 : Suivre l'efficacité des travaux de restauration et communiquer les			
Amélioration des	résultats			
connaissances et suivi des	S2 : Favoriser le suivi de l'évolution de l'aire de répartition des			
populations de poissons	saumons et truites de mer par le suivi des nids de ponte et frayères			
migrateurs	AL1 : Continuer le suivi des nids de ponte sur les secteurs de présence			
	de la lamproie et améliorer la connaissance générale sur les lamproies.			

#### II.3. Les principales espèces à enjeux

#### **II.3.1.** Les grands migrateurs

#### ► Le saumon atlantique

Le saumon atlantique (*Salmo salar*) est un salmonidé migrateur potamotoque. La première phase de son cycle biologique, c'est à dire l'éclosion des alevins et le développement des juvéniles (stade tacon) s'effectue en eau douce. Au bout d'un ou deux ans en rivière, les jeunes saumons vont connaître des changements physiologiques d'adaptation à la vie marine et vont dévaler les cours d'eau (stade smolt).

La seconde phase du cycle va alors se dérouler en mer, les saumons vont partir grossir au large du Groenland et des îles Féroé pendant un à trois ans. Les adultes vont ensuite revenir dans la rivière d'où ils sont partis (phénomène de homing) pour se reproduire dans les secteurs amont des cours d'eau. Plus de 90% des individus vont mourir après la reproduction.



Figure 2 : Photographie d'un saumon atlantique échantillonnée dans l'Authie en 2013

#### La truite de mer

La truite de mer (Salmo trutta trutta) est également un salmonidé migrateur potamotoque. Il s'agit de la même espèce que la truite fario (Salmo trutta fario), mais c'est un écotype qui migre en mer pour effectuer sa phase de grossissement. Son cycle biologique est très proche de celui du saumon. Après une ou deux années en rivière, les jeunes truites de mer vont connaître des changements physiologiques d'adaptation à la vie marine et vont dévaler les cours d'eau.

Comme chez le saumon atlantique, la seconde phase du cycle de la truite de mer va alors se dérouler en mer. Cependant, les truites de mer vont rester sur le plateau continental à proximité des zones côtières, en Manche et Mer du Nord, pour une durée allant de quelques mois à plus de deux ans. Les adultes vont ensuite revenir en eau douce pour se reproduire, principalement dans la rivière d'où ils sont partis, mais ce comportement de homing semble moins systématique que chez le saumon atlantique. A la différence du saumon atlantique, une partie des géniteurs survit à la reproduction et redescend en mer à l'issue de la fraie. Les géniteurs sont ensuite capables de revenir tous les ans se reproduire en eau douce (jusqu'à 7 fois).



Figure 3 : Photographie d'une truite de mer échantillonnée dans la Canche en 2015

#### L'Anguille Européenne

L'anguille européenne (Anguilla anguilla) est le seul grand migrateur thalassotoque européen et présente une large distribution géographique. Opportuniste et ubiquiste, l'anguille est capable de s'adapter à tous les types d'habitats accessibles. Son cycle de vie unique est encore mystérieux sur de nombreux points. Après une vie en eau douce, elle rejoindrait la mer des Sargasses pour effectuer son unique reproduction (espèce semelpare).

A l'éclosion, les larves leptocéphales (en forme de feuille de saule) sont portées par les courants océaniques (Gulf-Stream) de manière passive jusqu'à l'approche du plateau continental. Les leptocéphales se métamorphosent alors en civelles : leur corps s'allonge et devient cylindrique, et elles entament une migration portée puis nagée dans les estuaires.

Les civelles vont alors progressivement se pigmenter jusqu'à atteindre le stade Anguillette durant lequel elles poursuivent leur migration vers l'amont en colonisant les hydrosystèmes continentaux accessibles. S'ensuit le stade Anguille jaune, phase de croissance essentiellement sédentaire jusqu'à leur maturation sexuelle. Cette phase varie de 4 à 20 ans pour les femelles et 2 à 15 ans pour les mâles.

Au terme de sa période continentale, l'Anguille subit une dernière métamorphose pour atteindre le stade Anguille argentée. Des changements physiologiques (changement de couleur, augmentation de la taille des yeux, de la taille des nageoires pectorales et de l'épaisseur de la peau...) préparent l'Anguille à son retour vers la mer des Sargasses. La dévalaison des anguilles débute généralement à l'automne et se poursuit jusqu'au début du printemps.



Figure 4 : Photographie d'une anguille européenne

#### La lamproie marine

Les lamproies marines (*Petromyzon marinus*) ne sont pas des poissons mais des agnathes, c'est-à-dire qu'elles ne possèdent pas de mâchoire articulée mais un disque buccale adapté à la succion. Leur corps est cylindrique, et elles atteignent une taille de 60cm à 1,2m.

Il s'agit de migrateurs amphihalins potamotoques qui réalisent leur migration anadrome de reproduction entre les mois de mai et juillet. Les géniteurs ne survivent pas à la reproduction. Les juvéniles appelés ammocètes vont rester abrités dans des lits sablo-limoneux pendant 3 à 8 ans, avant de dévaler en mer. Ils séjourneront entre 1 et 2 ans en mer pour leur phase de grossissement en parasitant certaines espèces de poisson, avant de remonter les cours d'eau, en avril/juin, pour se reproduire à leur tour.

#### La lamproie fluviatile

La lamproie fluviatile (*Lampetra fluviatilis*) se distingue de la lamproie marine par une taille réduite (environ 40 cm au stade adulte) et une coloration plus terne. C'est également un migrateur potamotoque dont la migration de montaison est plus étalée et s'effectue de l'automne au printemps. La reproduction s'effectue entre fin mars et début mai. Tout comme la Lamproie marine, les géniteurs meurent après la reproduction, et les ammocètes vont rester entre 3 et 7 ans en eau douce avant leur dévalaison en mer. A la différence de la Lamproie marine, la migration marine va se dérouler à proximité des côtes (moins de 20 km) et à une profondeur de moins de 50 m.





Figure 5 : Photographies d'une lamproie marine (à gauche) et de lamproies fluviatiles (à droite)

#### II.3.2. L'écrevisse à pattes blanche

L'écrevisse à pattes blanches ou pieds blancs (*Austropotamobius pallipes*) est un crustacé décapode de la famille des Astacidés. C'est une espèce autochtone européenne principalement présente en Europe de l'Ouest. Elle est inscrite sur la liste des espèces protégées en France (articles L411-1 et 2 du Code de Environnement) et est classée « vulnérable » par l'UICN (UICN, 2014).



Figure 6 : Photographie d'Austropotamobius pallipes (©David Gerke)

Historiquement présente partout et en abondance en France, c'est une espèce qui a énormément régressé, et ses populations sont désormais très fragmentées et isolées, bien qu'elle reste l'écrevisse native la plus représentée à l'échelle du pays. Les principales causes de ce déclin sont la détérioration de son habitat, et la présence d'espèces d'écrevisses invasives. L'impact de ces dernières peut être lié à la compétition directe, par prédation ou occupation de l'habitat, mais également par la transmission de la peste de l'écrevisse (Aphanomycose),

dont les écrevisses allochtones (l'Écrevisse de Californie (*Pacifastacus leniusculus*), l'Écrevisse américaine (*Orconectes limosus*) et l'Écrevisse de Louisiane (*Procambarus clar*kii)) peuvent être porteuse saine (Collas et al., 2014).

L'écrevisse à pattes blanches est présente dans des cours d'eau au régime hydraulique varié et

même dans des plans d'eau, cependant elle affectionne principalement les eaux fraîches, bien renouvelées, et de bonne qualité physico-chimique. Elle trouve son optimum dans les zones à truites, cependant elle évite les zones très froides près des sources (Puissauve et al., 2015).

Austropotamobius pallipes n'est pas, lors des dernières enquêtes (Figure 7; ONEMA, 2016), connue sur le bassin versant de la Hem, ni même dans le département du Pas-de-Calais (historique de la répartition depuis 1977 en annexe 1), bien qu'elle fût historiquement présente (Laurent et Suscillon, 1962). Toutefois, sa présence à récemment été signalée sur certains cours d'eau du département (communications personnelles).



Figure 7 : Répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France en 2014. Source : ONEMA

#### III. Matériel et méthode

#### III.1. Eléments de définitions



Figure 8 : Schéma explicatif de l'analyse de l'ADNe ©Spygen

nombre de séquences ADN

L'ADN environnemental est défini tel que « l'ADN pouvant être extrait à partir d'échantillons environnementaux sans avoir besoin d'isoler au préalable des individus cibles » (Taberlet et al. 2012). Dans notre cas, cet ADN sera extrait à partir de prélèvements d'eau dans le but de cibler le compartiment piscicole, mais aussi l'écrevisse à pattes blanches (Austropotamobius pallipes).

L'ADN extrait est ensuite amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) grâce à des couples d'amorces spécifiques, permettant de déterminer la présence ou l'absence de l'espèce ciblée (Figure 8). Il existe deux approches différentes (proposées par le laboratoire SpyGen) qui sont : l'approche multi-spécifique (metabarcoding ou VigiDNA® M) et l'approche monospécifique (barcoding ou VigiDNA® S).

La technique multi-spécifique permet de détecter un ensemble d'espèces d'un groupe taxonomique donné, et est utilisée dans la présente étude pour l'obtention d'une liste de présence des espèces piscicoles.

La technique mono-spécifique permet quant à elle de détecter la présence d'un seul taxon cible mais avec une plus grande précision. Elle est plus généralement utilisée dans le cadre de recherche d'espèces rares, menacées ou invasives. Cette technique est utilisée ici pour détecter la présence de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*).

L'analyse de l'ADNe est une méthode qui possède l'avantage d'être non intrusive et facilement mise en place, nécessitant un déploiement humain et matériel réduit. Elle possède néanmoins certaine limites qu'il convient de garder à l'esprit lors des analyses :

Certains taxons ne peuvent actuellement qu'être décrits au niveau de la Famille à l'aide de l'étude de l'ADNe. Ceux-ci seront listés dans la partie résultats.

L'ADN possède une durée de vie dans le milieu aqueux d'environ 15 jours (en fonction de divers facteurs ; espèces, UV, T°...).

L'expertise ADN n'apporte pas de notion de biomasse, de taille ou de densité (information uniquement semi-quantitative grâce au nombre de réplicas ou des séquences).

#### III.2. Protocole d'échantillonnage ADNe

Le protocole de prélèvement est le même selon la technique d'analyse choisie (multi-spécifique ou mono-spécifique). Dans le cas de milieu lotique, comme c'est le cas sur la Hem et ses affluents, les prélèvements sont réalisés à l'aide d'une pompe péristaltique qui filtre l'eau durant un temps donné, à raison de deux réplicas par station. Le protocole de mise en œuvre est le suivant :

- Préparation du matériel (capsule de filtration, pompe et perche) et étiquetage à l'aide de gants stériles afin d'éviter toutes contaminations.
- Fixation de l'extrémité du tuyau avec crépine sur la perche préalablement munie d'une protection plastique.
- Insertion de la capsule de filtration à l'autre extrémité du tuyau, en respectant le sens d'écoulement.
- Installation du tuyau dans la pompe péristaltique « Vampire Sampler® ».
- Filtration de l'eau à l'aide du Vampire Sampler® pendant 30 min (filtration d'1L/min soit 30 L filtrés au total) ou jusqu'à saturation de la capsule de filtration.
- Arrêt de la filtration et conditionnement de la capsule avec une solution tampon de conservation permettant de fixer l'ADN.
- Répétition pour le second réplica.

Une attention toute particulière est évidement apportée aux risques de contaminations. L'opérateur doit rester attentif à sa manipulation afin de réduire ces risques au maximum. Les capsules sont ensuite envoyées au laboratoire SpyGen pour analyse génétique. Le délai de traitement classique est d'environ 3 mois. Un tableau récapitulatif des prélèvements est visible en annexe 2.

Les prélèvements sur les 7 stations ont été réalisés sur deux journées à l'aide de deux opérateurs les 22 et 23 juin 2020, sans problème technique notable. Cette période cible particulièrement la fraie de la lamproie marine et des Aloses afin d'optimiser les chances de les détecter.

#### III.3. Sites de prélèvements

Les sites de prélèvements (Tableau 2) sont répartis sur l'ensemble du tronçon de la Hem, et sur le Loquin, affluent de la Hem (Figure 9 et Figure 10). Le choix des sites de prélèvement a été réalisé en considération des objectifs principaux de l'étude et dans un souci d'optimisation de la détectabilité de l'ensemble des espèces.

Les deux stations les plus en têtes de bassin (Hem-5 et Hem-7) ont été choisies pour l'analyse monospécifique dans le but de détecter la présence de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*).

Tableau 2 : Sites de prélèvements

Station	Cours d'eau	Commune	ne Informations de localisation Espèce / Grotaxo. reche	
Hem-1	Meulestroom	Polincove	En amont immédiat de l'ouvrage de Samarande (démantelé)	Poisson
Hem-2	Hem	Recques-sur-Hem		Poisson
Hem-3	Hem	Tournehem	Anciennement en aval du moulin de la Leulenne (contourné en 2017)	Poisson
Hem-4	Hem	Bonningues-les-Ardres		Poisson
Hem-5	Loquin	Audrehem	En aval de la confluence avec l'Alquine	Poisson / A. pallipes
Hem-6	Hem	Clerques	En aval du moulin d'Audenfort	Poisson
Hem-7	Hem	Licques	En aval de la confluence avec le ruisseau des fontinettes	Poisson / A. pallipes

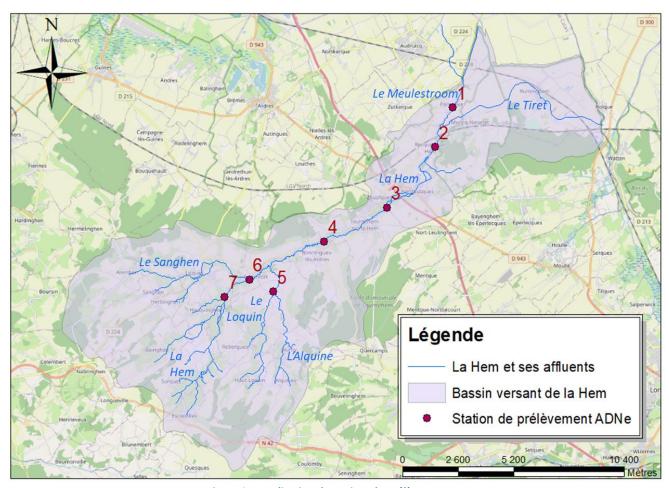


Figure 9 : Localisation des points de prélèvements



Figure 10 : Planche photographique des sept stations de prélèvements sur la Hem et ses affluents

#### **IV. Résultats**

#### Prérequis

Lors de l'analyse des résultats, il faut garder à l'esprit les points suivants :

- D'éventuelles pollutions génétiques sont possibles et peuvent mener à des résultats aberrants, par exemple en aval d'une station d'épuration.
- L'ADN possède une durée de vie dans le milieu aqueux d'environ 15 jours (en fonction de divers facteurs : espèces, UV, T°...).
- Certains taxons ne peuvent actuellement qu'être décrits au niveau du genre ou de la Famille à l'aide de l'étude de l'ADNe (Tableau 3). Il est parfois possible de déduire, ou d'émettre des hypothèses sur l'espèce auquel le genre fait référence en fonction des caractéristiques de la station ou de l'absence certifiée de l'un des taxons. Cela n'est cependant pas possible ici pour les lamproies fluviatile et de Planer, toutes deux présentes sur le bassin. De la même manière, les analyses ne permettent pas de distinguer les séquences ADN de la Truite fario (Salmo trutta fario) et de la Truite de mer (Salmo trutta trutta). Il s'agit en effet de la même espèce, la Truite de mer étant un « écotype » qui va migrer en mer pour effectuer sa phase de grossissement. Concernant les Pleuronectidae, bien que les deux espèces du complexe 1 soient des espèces marines, seul le flet (Platichthys flesus) évolue en milieu dulçaquicole, la plie (Pleuronectes platessa) se bornant aux estuaires. Le taxon alors détecté sur la Hem est alors, sans grand doute, le flet.

Tableau 3: Limites d'identification de certains taxons

	Limites d'identification des taxons	
Carassius sp.	Carassius auratus, Carassius carassius ou Carassius gibelio	Carassin
Cottus sp.	Cottus aturi, Cottus duranii, Cottus gobio, Cottus hispaniolensis, Cottus perifretum ou Cottus petiti	Chabot
Cyprinidae Complexe 4	Alburnus alburnus ou Scardinius erythrophtalmus	Ablette ou Rotengle
Gobio sp.	Gobio gobio, Gobio lozanoi ou Gobio occitaniae	Goujon
Lampetra sp.	Lampetra fluviatilis ou Lampetra planeri	Lamproie fluviatile ou lamproie de Planer
Leuciscus sp.	Leuciscus idus ou Leuciscus leuciscus	Ide mélanote ou Vandoise
Pleuronectidae Complexe 1	Platichthys flesus ou Pleuronectes platessa	Flet ou Plie commune
Salmo trutta	Salmo trutta fario ou Salmo trutta trutta	Truite fario ou Truite de mer

Les résultats transmis par le laboratoire Spygen présentent, pour chacun des deux prélèvements par station, le nombre de réplicas positifs, ainsi que le nombre de séquences ADN identifiées. Les réplicas sont au nombre de 12 par prélèvements afin de garantir une certitude quant à la présence d'une espèce. Le nombre de réplicas positifs (x/12) correspond au nombre de réplicas différents où la présence de l'espèce a été effectivement validée au-delà d'un seuil significatif. Le nombre de séquences, quant à lui, représente le nombre de séquences ADN correspondant aux amorces utilisées qui ont pu être retrouvées dans l'échantillon. Ces deux indicateurs peuvent nous renseigner sur l'aspect semi-quantitatif de la présence d'un taxon. Cette analyse reste cependant à considérer avec précaution car de nombreux autres facteurs que le nombre d'individus peuvent influer sur la quantité d'ADN récoltée, comme par exemple la distance des individus au point de prélèvement ou leur taille. Le frai des poissons peut également fortement augmenter la quantité de matériel génétique relarguée dans le milieu, il est donc important de tenir compte de la période de frai des différentes espèces dans l'analyse des résultats.

#### Cas particulier de la Truite arc-en-ciel :

Lors de l'analyse de l'ADN, Spygen compare les séquences de gènes obtenues par extraction PCR à plusieurs bases de données afin d'identifier les taxons. Alors que la quasi-totalité des séquences ont trouvé correspondance avec des séquences de la base de référence de Spygen, certaines séquences ont été assimilées à *Onchorynchus clarkii* de la base de référence de l'EMBL.

Cette espèce n'étant pas présente sur le territoire, il a été admis par Spygen qu'il s'agirait bien de la Truite arc-en-ciel (*Onchorynchus mykiss*), qui posséderait des séquences d'ADN communes aves la clarkii, utilisées dans la base de référence.

Pour l'analyse des résultats, les nombres de séquences correspondant à la truite arc-enciel issues de base de référence EMBL et de celle de Spygen ont été additionnées.

#### IV.1. Approche multi-spécifiques sur le compartiment ichtyologique

#### IV.1.1. Vue d'ensemble sur le bassin versant de la Hem-

Les analyses ont permis de détecter l'ADN de 22 espèces de poissons sur l'ensemble des stations échantillonnées sur la Hem et ses affluents. La liste taxonomique complète est présentée dans le Tableau 4.

D'après l'analyse du nombre de réplicas positifs et de séquences de gènes retrouvées (Tableau 5), les espèces les plus communément retrouvées sur le bassin de la Hem sont le chabot (*Cottus sp.*) et la truite (*Salmo trutta*), cortège typique des cours d'eau de première catégorie, accompagné du vairon (*Phoxinus phoxinus*), de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus sp.*) et de l'anguille (*Anguilla anguilla*). Les espèces qui apparaissent les moins représentées sont la tanche (*Tinca tinca*), la grémille (*Gymnocephalus cernua*), l'ablette (*Alburnus alburnus*), l'ombre commun (*Thymallus thymallus*) et le rotengle (*Scardinius erythrophtalmus*).

Tableau 4 : Liste des espèces piscicoles détectées par l'ADNe sur le bassin de la Hem

Nom vernaculaire	Code taxon	Nom scientifique
Brème commune	BRE	Abramis brama
Ablette	ABL	Alburnus alburnus
Anguille	ANG	Anguilla anguilla
Loche franche	LOF	Barbatula barbatula
Carassin	CAS	Carassius sp.
Chabot	CHA	Cottus sp.
Carpe commune	CCO	Cyprinus carpio
Brochet	BRO	Esox lucius
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus
Goujon	GOU	Gobio sp.
Grémille	GRE	Gymnocephalus cernuus
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.
Ide Mélanote ou Vandoise	IDE/VAN	Leuciscus sp.
Truite arc-en-ciel	TAC	Oncorhynchus mykiss
Perche fluviatile	PER	Perca fluviatilis
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus
Flet	FLE	Pleuronectidae
Gardon	GAR	Rutilus rutilus
Truite	TRF/TRM	Salmo trutta
Rotengle	ROT	Scardinius erythrophtalmus
Ombre commun	OBR	Thymallus thymallus
Tanche	TAN	Tinca tinca

Tableau 5 : Tendances globales de la population piscicole de la Hem et ses affluents obtenues à l'aide de l'ADNe

(\*Occurrence pour les 14 prélèvements réalisés - \*\*Total des séquences sur l'ensemble des 14 prélèvements)

Diversité totale détectée :	22		
Richesse moyenne	13 8 (HEM-7)		
Richesse minimum par station			
Richesse maximum par station	18 (H	EM-1)	
Taxons les plus représentées	СНА	TRF	
(occurrence*/séquences totales**)	(14/750710)	(14/524950)	
Taxons les moins représentées	TAN	GRE	
(occurrence*/séquences totales**)	(1/210)	(2/149)	
Espèces migratrices	ANG, LPR , TRM		
Espèces patrimoniales détectées	ANG, CHA, BRC	), LPR/LPP, TRF,	
	OBR	, VAN	

Sur l'ensemble des prélèvements réalisés, 7 espèces dites patrimoniales ont été retrouvées (voire 8, si présence des deux espèces de *Lampetra*). Leurs statuts sont visibles dans le Tableau 6 ci-dessous. Une espèce patrimoniale correspond à une espèce protégée, menacée (sur liste rouge), rare ou encore une espèce ayant un intérêt scientifique, symbolique ou culturel régional. Ce statut d'espèce patrimoniale n'est pas un statut légal ou règlementaire mais constitue un bon indicateur de la richesse d'un territoire.

Tableau 6 : Listes des espèces patrimoniales détectées sur la Hem et leurs statuts de conservation

Nom scientifique	Nom vernaculaire	Liste rouge française	Directive Habitat- Faune-Flore*
Anguilla anguilla	Anguille	CR	
Cottus sp.	Chabot	LC	Annexe II
Esox lucius	Brochet	VU	
Lampetra fluviatilis	Lamproie de rivière	VU	Annexe II et V
Lampetra planeri	Lamproie de Planer	LC	Annexe II
Leuciscus leuciscus	Vandoise	LC	
Salmo trutta	Truite Fario	LC	
Thymallus thymallus	Ombre commun	VU	

<sup>\*</sup> La directive 92/43/CEE concerne la conservation des habitats naturels ainsi que de la faune et de la flore sauvages (Conseil de l'Union Européenne, 1992). L'annexe II de la directive définit les espèces animales et végétales d'intérêt communautaire dont la conservation nécessite la désignation et l'annexe V les espèces animales et végétales d'intérêt communautaire dont le prélèvement dans la nature et l'exploitation sont susceptibles de faire l'objet de mesures de gestion.

Parmi ces espèces patrimoniales, on compte les grands migrateurs. On retrouve ici l'anquille européenne, et probablement la lamproie de rivière et la truite de mer. La lamproie marine (*Petromyzon marinus*) et le saumon atlantique (*Salmo salar*) n'ont pas été mis en évidence par les analyses de l'ADN environnemental.

En termes d'espèces exotiques, c'est-à-dire d'espèces allochtones introduites par l'Homme (volontairement ou de façon fortuite), seuls des taxons acclimatés sont à signaler (truite arc-en-ciel, carassin, carpe commune). Ces derniers ne sont pas susceptibles de provoquer des déséquilibres biologiques et ne présentent pas de caractère invasif.

<sup>\*\*</sup> Les sigles de la liste rouge nationale (UICN Comité français et al., 2019) sont : CR (en danger critique d'extinction), EN (en danger), VU (vulnérable), NT (quasi menacée), LC (préoccupation mineure), DD (données insuffisantes), NE (non évaluée) et NA (non applicable car espèce introduite sur la période récente).

#### IV.1.2. Analyse stationnelle

#### Station Hem-1





Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	Abramis brama	12	25 497	12	15638
Ablette	ABL	Alburnus alburnus	1	45	4	116
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	12	5 259	12	2399
Loche Franche	LOF	Barbatula barbatula	12	3 381	12	2427
Carrasin	CAS	Carassius sp.	*			
Chabot	CHA	Cottus sp.	12	15 783	12	9465
Carpe commune	CCO	Cyprinus carpio	10	689	8	258
Brochet	BRO	Esox lucius	8	276	6	111
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	6	267	4	71
Goujon	GOU	Gobio sp.	12	6 195	12	4511
Gremille	GRE	Gymnocephalus cernua	4	119	2	30
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.	12	1 535	10	810
Ide Melanote / Vandoise	IDE/VAN	Leuciscus sp.	12	32276	12	31051
Truite arc-en-ciel	TAC	Oncorhynchus mykiss	12	5908	12	7020
Perche fluviatile	PER	Perca fluviatilis	12	6545	12	4269
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus	12	34458	12	21353
Flet	FLE	Pleuronectidae	*			
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	12	19376	12	17441
Truite Fario	TRF	Salmo trutta	12	20782	12	16711
Ombre	OBR	Thymallus thymallus	8	530	7	237

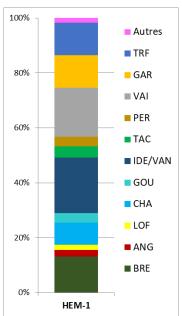


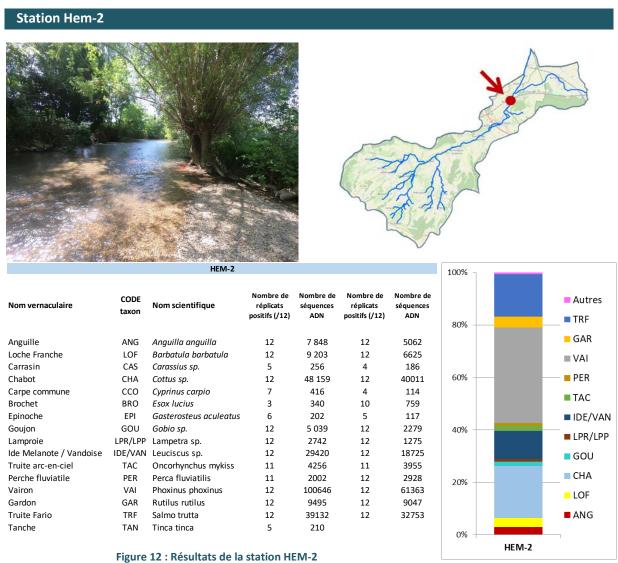
Figure 11 : Résultats de la station HEM-1

Sur la station Hem-1 située sur le Meulestroom au niveau de la commune de Polincove, 18 espèces de poissons ont été détectées. De l'ADN de carassin (Carassius sp.) et de flet (Pleuronectidae) ont egalement été retrouvés, mais en quantité trop infime pour valider leur présence. La présence du carassin est avérée sur les stations en amont, notamment sur la station Hem-2 située à Recques-sur-Hem à 2,2 km, ce qui explique la présence de son ADN. Le Flet est un poisson marin qu'il est possible de retrouver assez profondément dans les terres.

Cette station, la plus aval sur le bassin, est celle qui présente la diversité spécifique la plus importante de l'ensemble des stations échantillonnées. Cela s'explique par sa proximité avec le canal de Calais à Saint-Omer et son caractère plus lentique, permettant la présence d'espèces inféodées à la zone à Brème (grémille, ablette, brème commune), mais également celle des espèces typiques de la zone à Truites, présentes sur les stations amont.

<sup>\* :</sup> Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.

En termes de nombre de séquences d'ADN, c'est le complexe ide/vandoise qui est majoritaire, suivi du vairon et de la brème. Le amorces utilisées pour l'analyse ne permettent pas de distinguer l'ADN de l'ide de celui de la vandoise.



La station Hem-2 située sur la Hem au niveau de Recques-sur-Hem présente une diversité de 16 espèces. Les espèces majoritairement présentes selon les séquences ADN dénombrées sont le vairon, le chabot et la truite, ce qui représente un cortège classique des zones à truite. Il est à noter la détection de la tanche (Tinca tinca) dont l'ADN n'a été mis en évidence sur aucune autre station. Cependant le nombre de séquences ADN est faible (210) et seuls 5 réplicats sont positifs sur un des deux prélèvements réalisés. Sur le second, elle n'a pas été mise en évidence. Cela indique une faible présence de l'espèce dans le milieu.

#### **Station Hem-3** 100% Nombre de Nombre de Nombre de CODE Nom vernaculaire Nom scientifique réplicats séauences réplicats taxon positifs (/12) ADN positifs (/12) ADN 80% Autres 6 063 4130 Anguille ANG Anguilla anguilla 12 12 Loche Franche LOF Barbatula barbatula 12 9 283 12 5846 ■ TRF Carrasin CAS Carassius sp. 10 735 10 933 СНА 12 56 183 12 37835 60% GAR Chabot Cottus sp. Carpe commune CCO Cyprinus carpio 6 83 3 55 ■ VAI Brochet BRO Esox lucius 178 53 ■ TAC Epinoche EPI Gasterosteus aculeatus 847 Goujon GOU Gobio sp. 11 1 069 12 40% ■ IDE/VAN Lamproie LPR/LPP Lampetra sp. 12 2081 12 1437 Ide Melanote / Vandoise IDE/VAN Leuciscus sp. 12 11280 12 9495 CHA 24296 Truite arc-en-ciel TAC Oncorhynchus mykiss 12 15278 12 LOF Perche fluviatile PER Perca fluviatilis 5 195 6 186 20% VAI 12 52593 12 51747 ANG Phoxinus phoxinus Gardon GAR Rutilus rutilus 12 20978 12 13596 Truite Fario **TRF** Salmo trutta 12 26919 12 20088 Scardinius Rotengle ROT 195 1 92 0% erythrophthalmus HEM-3

Figure 13 : Résultats de la station HEM-3

La station Hem-3 située sur la Hem à l'aval du contournement du moulin de la Leulenne présente une diversité de 15 espèces, et une communauté piscicole assez similaire à celle de la station Hem-2.

Elle diffère de celle-ci par la présence du rotengle (Scardinius erythrophtalmus) et par l'absence de la tanche et de l'épinoche (quantité d'ADN trop faible). L'épinoche a été mise en évidence sur l'ensemble des stations échantillonnées, exceptée celle-ci, mais en quantité (nombre de séquences) assez réduite. Ces résultats semblent indiquer une présence de l'épinoche sur l'ensemble du bassin versant mais dans des proportions assez faibles.

st : Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.





HEM-4						
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	12	6 516	11	6509
Loche Franche	LOF	Barbatula barbatula	5	306	2	143
Carrasin	CAS	Carassius sp.	*			
Chabot	CHA	Cottus sp.	12	88 252	12	67504
Ablette / Rotengle	ABL/ROT	Cyprinidae - Complexe 4	*			
Carpe commune	CCO	Cyprinus carpio	11	1 357	11	1980
Brochet	BRO	Esox lucius	4	175	2	92
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	3	52	5	210
Goujon	GOU	Gobio sp.	*			
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.	12	4833	12	5445
Ide Melanote / Vandoise	IDE/VAN	Leuciscus sp.	10	1753	8	733
Truite arc-en-ciel	TAC	Oncorhynchus mykiss	12	44564	12	31340
Perche fluviatile	PER	Perca fluviatilis	3	224	1	195
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus	12	49546	12	64820
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	2	101	1	23
Truite Fario	TRF	Salmo trutta	12	63909	12	39330
Rotengle	ROT	Scardinius erythrophthalmus	*		*	

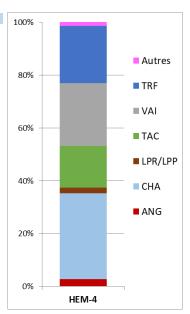
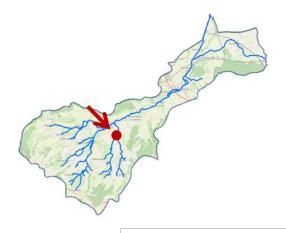


Figure 14 : Résultats de la station HEM-4

Sur la station HEM-4 située sur la Hem au niveau de la commune de Bonningues-les Ardres, 13 espèces ont été détectées. Globalement l'assemblage d'espèces apparait proche de celui des stations Hem-2 et Hem-3. La richesse spécifique est plus faible sur cette station car les quantités d'ADN de carassin, de goujon et de rotengle retrouvées sont insuffisantes pour certifier leur detection. Cette information permet cependant de penser que le carassin et le rotengle sont présents sur tout le secteur mais en quantité assez faible. En effet, sur les stations où leur detection est certifiée, le nombre de séquences retrouvées reste faible. Concernant le goujon, cette station correspond probablement à la limite amont de sa présence sur le bassin de la Hem. Une faible quantité d'ADN correspondant au complexe ablette/rotengle est également ressorti, mais étant donné le positionnement de la station sur le bassin, il est plus probable que cet ADN corresponde à du rotengle.

<sup>\* :</sup> Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.





HEM-5						
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Brème commune	BRE	Abramis brama	2	139	3	178
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	12	6 362	12	8507
Carrasin	CAS	Carassius sp.	7	424	9	601
Chabot	CHA	Cottus sp.	12	57 796	12	80034
Ablette / Rotengle	ABL/ROT	Cyprinidae - Complexe 4	1	141	9	447
Carpe commune	CCO	Cyprinus carpio	11	1 576	12	4233
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	4	150	4	387
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.	11	1020	12	1067
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus	*		*	
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	12	2447	12	3211
Truite Fario	TRF	Salmo trutta	12	51083	12	83857

<sup>■</sup> Autres

■ TRF

60%

■ GAR

■ CCO

40%

■ CHA

■ ANG

Figure 15: Résultats de la station HEM-5

La station Hem-5, située sur le Loquin à l'aval de la confluence avec l'Alquine, et à 1,5km en amont de sa confluence avec la Hem, présente une diversité de 10 espèces. Très largement dominée par la présence de la truite fario et du chabot, on reconnait un cortège plus spécifique aux têtes de bassin, malgré la présence de la brème commune qui n'est présente autrement que sur la station la plus aval de la Hem (Hem-1). Il est à noter également l'absence de la truite arc-en-ciel, très présente sur l'ensemble des stations de la Hem.

<sup>\* :</sup> Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon.





		HEM-6				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	12	1 091	12	2564
Carrasin	CAS	Carassius sp.	2	68	5	141
Chabot	CHA	Cottus sp.	12	17 386	12	32055
Carpe commune	CCO	Cyprinus carpio	12	3 968	12	8127
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	6	134	8	437
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.	12	1471	12	2633
Ide Melanote / Vandoise	IDE/VAN	Leuciscus sp.	10	406	4	309
Truite arc-en-ciel	TAC	Oncorhynchus clarkii	12	58773	12	143348
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus	12	587	9	723
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	6	295	3	223
Truite Fario	TRF	Salmo trutta	12	9983	12	18987
Rotengle	ROT	Scardinius erythrophthalmus	9	943	9	1092

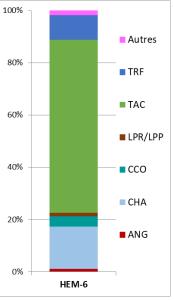


Figure 16 : Résultats de la station HEM-6

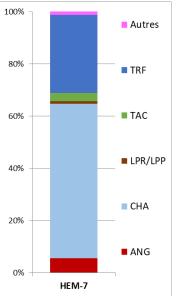
Les prélèvements réalisés sur la station Hem-6, située sur la Hem à l'aval du moulin d'Audenfort, mettent en évidence la présence de 10 espèces de poissons. La populations est, en terme de nombre de séquences d'ADN extraites, très fortement dominée par la présence de la truite arc-en-ciel, issue de déversements, ainsi que de la truite fario et du chabot. Il est à noter que la loche franche, le brochet et la perche, qui était présents sur l'ensemble des stations aval de la Hem, n'ont plus été retrouvés.





		HEM-7				
Nom vernaculaire	CODE taxon	Nom scientifique	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN	Nombre de réplicats positifs (/12)	Nombre de séquences ADN
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	12	9 465	12	9717
Chabot	CHA	Cottus sp.	12	92 286	12	107761
Carpe commune	cco	Cyprinus carpio	10	539	10	359
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	10	778	9	530
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.	11	1382	12	2139
Truite arc-en-ciel	TAC	Oncorhynchus mykiss	2	6175	2	4347
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	12	1324	12	1004
Truite Fario	TRF	Salmo trutta	12	47258	12	54158

Figure 17 : Résultats de la station HEM-7



Au niveau de la station Hem-7, station la plus amont de l'étude, située en aval de la confluence avec le ruisseau des Fontinettes et en amont du front de migration, seules 8 espèces ont été détectées. La quantité de séquences ADN retrouvées indique une forte dominance de l'assemblage typique des têtes de bassin : la truite fario et le chabot.

#### IV.1.3. Evolution longitudinale

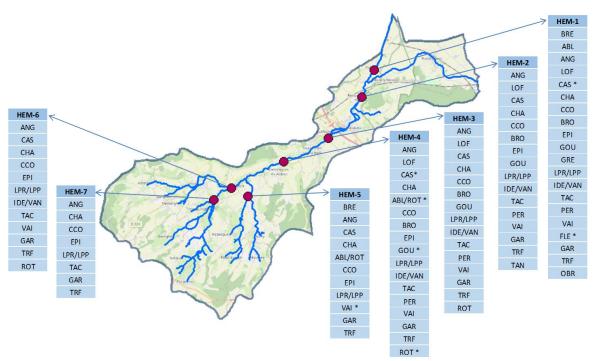


Figure 18 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station.

\*nombres de séquences insuffisantes pour détecter l'espèce avec certitude.

La cartographie de la Figure 18 , ainsi que le tableau de présence (Tableau 7) permettent de se rendre compte de la répartition longitudinale des différentes espèces piscicoles sur l'ensemble du bassin versant de la Hem. L'occurrence de chaque espèce sur chacune des stations échantillonnées est visible sur la Figure 19.

Tableau 7 : Récapitulatif des taxons détectés par station

			HEM-1	HEM-2	HEM-3	HEM-4	HEM-5	HEM-6	HEM-7
Brème commune	BRE	Abramis brama	Χ				Χ		
Ablette	ABL	Alburnus alburnus	Χ						
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	Χ	X	Х	Х	Χ	Χ	Х
Loche Franche	LOF	Barbatula barbatula	Χ	Χ	Х	Х			
Carassin	CAS	Carassius sp.	*	Х	Х	*	Χ	Х	
Chabot	CHA	Cottus sp.	Χ	Χ	Χ	Χ	Χ	Χ	Х
Ablette / Rotengle	ABL/ROT	Cyprinidae - Complexe 4				*	Χ		
Carpe commune	ССО	Cyprinus carpio	Χ	Χ	Χ	Χ	Χ	Χ	Χ
Brochet	BRO	Esox lucius	Χ	Χ	Χ	Χ			
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus	Χ	Χ	*	Χ	Χ	Х	Χ
Goujon	GOU	Gobio sp.	Χ	Χ	Χ	*			
Grémille	GRE	Gymnocephalus cernua	Χ						
Lamproie	LPR/LPP	Lampetra sp.	Χ	Χ	Х	Х	Х	Х	Х
Ide Mélanote / Vandoise	IDE	Leuciscus sp.	Χ	Χ	Χ	Χ		Х	
Truite arc-en-ciel	TAC	Oncorhynchus sp.	Χ	Χ	Χ	Χ		Х	Χ
Perche fluviatile	PER	Perca fluviatilis	Χ	Χ	Χ	Χ			
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus	Χ	Χ	Χ	Χ	*	Х	
Flet	FLE	Pleuronectidae - Complexe 1	*						
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	Χ	Χ	X	X	Χ	Χ	Х
Truite	TRF	Salmo trutta	Χ	Χ	Х	Х	Χ	Х	X
Rotengle	ROT	Scardinius erythrophthalmus			X	*		Χ	
Ombre	OBR	Thymallus thymallus	Χ						
Tanche	TAN	Tinca tinca		Х					
	•	Diversité spécifique	18	16	15	13	10	12	8

X = Présence; \* = Quantité d'ADN insuffisante pour certifier la détection du taxon dans l'échantillon

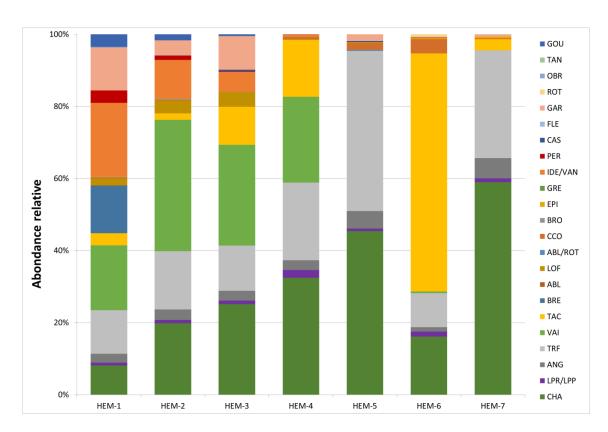


Figure 19 : Abondance relative du nombre de séquence ADN de chaque espèce détectée, pour l'ensemble des stations

L'analyse longitudinale peut présenter un intérêt particulier pour les espèces migratrices. La Figure 20 représente l'évolution sur l'axe Hem du nombre de séquences d'ADN retrouvé par station, ainsi que le nombre de réplicas positifs, pour l'anguillle (*Anguilla anguilla*), les lamproies (*Lampetra sp.* : lamproies de rivière et de Planer) et la truite (*Salmo trutta* : truites fario et truite de mer).

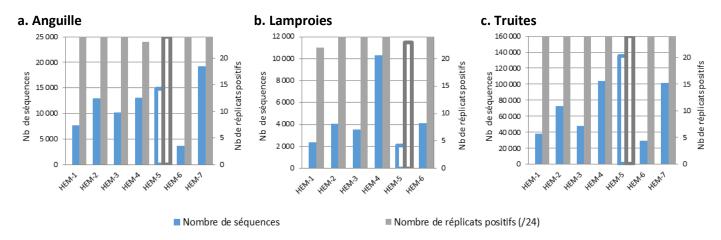


Figure 20 : Nombre de séquence d'ADN a. : d'Anguille (Anguilla anguilla) ; b. : de Lamproie de rivière et de Planer (Lampetra sp) ; c. : de Truite fario ou truite de mer (Salmo trutta), et le nombre de réplicas positifs correspondant pour l'ensemble des stations de l'axe Hem (barres d'histogramme pleines) et affluent (barres d'histogramme ajourées).

# IV.2. Approche mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches (Austropotamobius pallipes)

Sur les deux stations, Hem-5 et Hem-7, où la technique d'analyse de l'ADN dite mono-spécifique a été déployée, de l'ADN d'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) a été détecté.

Site	Détection de l'ADN de l'Écrevisse à pattes blanches	Nombre de réplicats positifs
LIENA E	OUI	2/12
HEM-5	OUI	1/12
HEM-7	OUI	2/12
IILIVI-7	OUI	4/12



Figure 21 : Résultats de l'analyse mono-spécifique sur l'écrevisse à pattes blanches (Austropotamobius pallipes)

### V. Discussion & Perspectives

#### V.1.Comparaison avec les données antérieures

#### Données de pêches à l'électricité

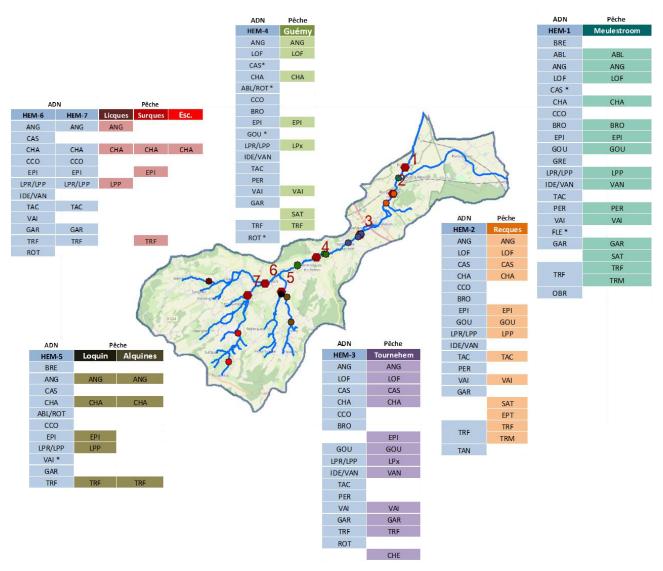


Figure 22 : Représentation cartographique schématique des listes de taxons obtenues à l'aide de l'ADNe par station, et par pêche électrique sur les stations à proximité

\*nombres de séquences insuffisantes pour détecter l'espèce avec certitude.

Les résultats des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le bassin de la Hem ont été recueillis (détail des opérations et des résultats en annexe 3 et 4). La Figure 22 présente les listes de taxons obtenus lors des différentes opérations de pêche électrique en parallèle avec les listes de taxons issues de l'analyse de l'ADNe sur les stations les plus proches.

Il en ressort globalement que l'ADNe permet de mettre en évidence la présence d'un plus grand nombre de taxons.

Sur la station la plus aval (Hem-1), l'ADN de grémille (*Gymnocephalus cernuus*; GRE) et de flet (*Platichthys flesus*; FLE) ont été détectés alors que ces deux espèces n'ont jamais été pêchées à l'électricité sur la Hem. Ils sont cependant présents dans le canal situé à environ 4 km en aval de la station. En outre, la présence du Flet avait déjà été détectée par des analyses ADNe en 2018 dans le canal à Grand gabarit au niveau de la commune de Saint-Omer (Namokel, 2020) et confirmée par des photographies de



Figure 23 : Photographie de flet pêché sur la Basse Meldyck sur la commune de Blendecques (62)

prises de pêcheurs dans la Basse-Meldyck à Blendecques Meldyck sur la commune de Blendecques (62) (Figure 23). Ces résultats mettent donc en évidence que certains individus choisissent de progresser sur l'axe Hem. L'ombre commun (*Thymallus thymallus*; OBR) n'a lui non plus jamais été recensé lors d'opérations de pêche à l'électricité sur la Hem et son ADN a été retrouvé au niveau de la station

Hem-1. Sa présence a cependant déjà été mentionnée dans la Hem, sur des secteurs plus en amont (communications personnelles).

Sur la totalité des stations, de l'ADN de carpe (*Cyprinus carpio*; CCO) a été détecté, sans que ce taxon n'apparaisse dans les résultats de pêche d'inventaires. C'est le cas sur plusieurs stations également pour le brochet (*Esox lucius*; BRO). Ces espèces présentes en faibles effectifs sont difficiles à intercepter en pêche électrique (fuite).

De la truite arc-en-ciel (*Onchorynchus mykiss*; TAC) est également détectée sur l'ensemble du linéaire de la Hem (exceptée sur le Loquin, Hem-5), issue des déversements réalisés par les AAPPMA locales. Un déversement récent à proximité de la station Hem-6, en aval du moulin d'Audenfort, pourrait expliquer l'abondance relative de séquences particulièrement élevée (voir Figure 16 et Figure 19).

A l'inverse, plusieurs taxons contactés lors d'inventaires à l'électricité n'ont pas été retrouvés lors des prélèvements ADN.

Lors d'une pêche complète en amont du moulin de la Leulenne sur la commune de Tournehem-sur-Hem en juin 2013, 8 individus de chevesne (*Squalius cephalus*; CHE) ont été inventoriés. Cette espèce n'a jamais été signalée dans ce contexte et n'est présente dans le département que dans le Val de Sensée, au Sud-Est du département. Il est donc fortement probable qu'une confusion ait eu lieu entre chevesne et vandoise (*Leuciscus leuciscus*; VAN), espèce effectivement présente sur la station.

De la même manière, il existe un doute sur l'épinochette (*Pungitus pungitus*; EPT) déterminée en septembre 2016 à Recques-sur-Hem lors d'une pêche de sauvegarde. Cette espèce dont la confusion avec l'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*; EPI) est possible, n'a en effet jamais été signalée dans le bassin de la Hem.

Concernant le saumon atlantique (Salmo salar; SAT), des tacons ont été inventoriés en septembre 2008 à Recques-sur-Hem (2 individus) et à Polincove (1 individu), ainsi qu'à Guémy en juin 2017 (15

individus). L'ADN n'a cependant pas permis de mettre en évidence la présence de tacons en 2020. Cette absence de détection ne signifie pas forcément son absence sur le bassin mais elle met en avant sa rareté. Les sujets de saumon potentiellement présents à cette période sont des tacons qui, en théorie, vont relarguer peu d'ADN au vu de leur taille. Dans le cas d'effectifs faibles et/ou de la localisation du prélèvement trop éloignée des zones de croissance des juvéniles, il se peut que le flux d'ADN ait pu ne pas être capté lors de nos prélèvements. Par ailleurs, il est fort probable que le succès de reproduction des salmonidés durant l'hiver 2019/2020 ait été très faible au vu des crues importantes de mars 2020 (Débit instantané maximum le 10/03/20=15,5m3/s – hydro.eaufrance.fr).

Les crues enregistrées en période hivernale ou en début de printemps sont en effet des plus impactantes pour la reproduction des salmonidés, car à cette période les œufs peuvent être encore en incubation dans les dômes incubateurs (Heggens et Traaen, 1988; Grost et Hubert, 1991) et les jeunes larves sont très fragiles et limitées en termes de capacités de mouvement (Pearsons et al., 1992; Hammonds et al., 1999; Holmes et al., 2013). Une crue significative intervenant peu après l'émergence des larves peut mener à une mortalité quasi-totale du recrutement annuel (Parkinson et al., 1999).

Enfin, en ce qui concerne le genre *Leuciscus* pour lesquel l'analyse ADN ne permet pas de faire la distinction entre la vandoise (*Leuciscus leuciscus*; VAN) et l'ide Mélanote (*Leuciscus idus*; IDE), il apparaitrait plus probable que les détections correspondent à de la vandoise. En effet, la vandoise est communément retrouvée sur la Hem lors de différentes opérations de pêche, tandis que l'ide Mélanote n'a jamais été mentionnée dans le bassin.

#### Données du réseau de suivi anguille

Dans le cadre du réseau de pêche spécifique anguille réalisé par la fédération, les populations d'anguilles du contexte Hem sont suivies tous les trois ans. Pour ce faire, des pêches à l'électricité de type EPA (Echantillonnage par abondance) sont effectuées sur trois stations réparties sur le tronçon Hem. Sur les quatre campagnes réalisées depuis 2011, les abondances d'anguille diminuent sur un gradient aval/amont (Figure 24). A l'inverse, le nombre de séquences d'ADN retrouvé dans nos

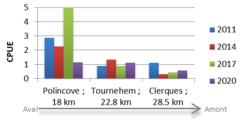


Figure 24 : CPUE (Nombre d'anguille par point) pour les 3 stations du suivi lors des différentes campagnes

prélèvements est le plus important sur la station la plus en tête de bassin. Le nombre de séquences d'ADN retrouvées dans les prélèvements est une donnée à analyser avec précaution. Il n'est en effet pas réaliste de l'assimiler à une abondance, au vu des différents facteurs influents. Cependant, le fait que l'ADN de l'espèce ait été retrouvé sur la quasi-totalité des réplicas, témoigne d'une présence non négligeable.

#### Données des suivis de nids de ponte

Au fur et à mesure du décloisonnement de la Hem par la réalisation d'aménagements, la colonisation du cours d'eau par les migrateurs est visible, via notamment le suivi des nids de ponte réalisés en janvier pour les grands salmonidés, et en avril pour les lamproies fluviatiles et de mi-mai à juin pour les lamproies marines.

Concernant les lamproies, on voit sur la Figure 25 : Localisation des frayères à lamproie marine et fluviatile recensé de 2010 à 2016, en 2017 et en 2019 sur la Hem (FDAAPPMA62) qu'avant 2016 le front de migration était situé au niveau du moulin de Polincove, très bas sur le bassin. Le faible linéaire colonisable était alors très fortement exploité par les lamproies fluviatiles, et seuls quelques nids de lamproies marines étaient relevés chaque année (entre 0 et 6). Depuis 2017 la Hem est colonisée jusqu'au moulin d'Audenfort par les lamproies fluviatiles, mais aucune frayère de lamproie marine n'a pu être observée. Cela peut être mis en relation avec la difficulté de caractériser un nid au vu du peu d'individus potentiels, et de l'augmentation du linéaire de prospection.

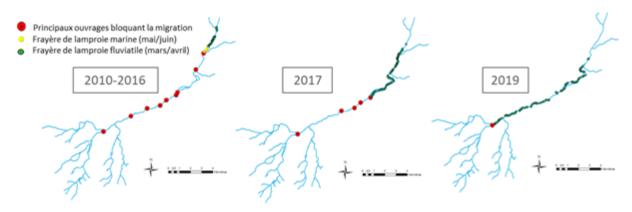


Figure 25 : Localisation des frayères à lamproie marine et fluviatile recensé de 2010 à 2016, en 2017 et en 2019 sur la Hem (FDAAPPMA62)

C'est dans ce sens que l'ADNe peut être un outil très utile, permettant de cibler les zones de prospection. Malheureusement aucune séquence d'ADN de lamproie marine n'a été détectée, bien que la période de prélèvement ait été spécifiquement choisie en fin de période de reproduction, afin d'optimiser les chances de capter de leur ADN. En effet, celui-ci peut être émis à la fois par les fèces des ammocètes, par les gamètes lors de la reproduction mais également lors de la décomposition du corps des individus morts suite au frai. Il est à noter que la méthode d'analyse de l'ADN multispécifique dite « metabarcoding » présente l'inconvénient d'être moins précise avec les espèces rares ; les espèces dont l'ADN est le plus abondant pouvant occulter les espèces dont l'ADN est plus faiblement représenté. La méthode mono-spécifique dite « barcoding » permet de détecter des espèces cibles avec une plus grande précision, malheureusement il n'existe pas à l'heure actuelle d'amorce spécifique pour la détection de la lamproie marine... En outre, l'absence de détection n'est



Figure 26 : Capture de la vidéo du passage d'une lamproie marine au riverwatcher de Mourlinghen sur la Liane, le 13 juin 2020

pas gage de l'absence de l'espèce. En effet, lors de la campagne de prélèvement effectuée sur la Liane à la même période, l'ADN de lamproie marine n'a pas été détecté sur les stations situées à proximité du système de vidéo-comptage où le passage d'un individu avait été enregistré une dizaine de jours auparavant (Figure 26). Des séquences d'ADN de lamproie marine ont cependant été détectées sur une station plus en aval (données FDAAPPMA62). Le même constat avait été fait sur l'Hérault par la FDPPMA 34 où les prélèvements n'avait pas permis de détecter la lamproie marine tandis qu'un individu avait franchi la passe à poissons de

Bladier-Ricard (Ravel, 2019; Ravel et Haddad, 2019).

Par ailleurs de l'ADN du genre *Lampetra* regroupant la Lamproie fluviatile et la lamproie de rivière a été détecté sur l'ensemble des stations. Au vu des résultats des suivis de frayères, il semblerait que les séquences retrouvées sur la station Hem-7, en amont du front de migration d'Audenfort, ne correspondent qu'à la lamproie de Planer, alors que les deux espèces sont susceptibles d'avoir été détectées sur les autres stations.

Il en est de même pour ce qui concerne les truites fario et les truites de mer, l'ADN de ces deux écotypes étant semblable. La truite fario est présente sur l'ensemble du contexte Hem, qui est d'ailleurs le côtier calcaire du Nord de la France pour lesquels les densités de truite fario sont les plus importantes (Atlas cartographique du PDPG 2.0 – Carte n°16 et 17), et la Figure 27 nous montre que la truite de mer colonise l'axe Hem jusqu'au front de migration d'Audenfort. L'ADN de truite détecté sur l'ensemble des stations peut donc correspondre aussi bien à des truites fario qu'a des truites de mer, excepté pour la station Hem-7 situé en amont du front de migration, où en théorie seule des truites fario sont présentes.

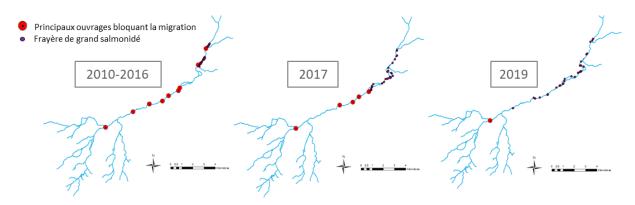


Figure 27 : Localisation des frayères à grands salmonidés recensés de 2010 à 2016, en 2017 et en 2019 sur la Hem (FDAAPPMA62)

#### V.2. Entrave à la continuité écologique : l'écluse 63-bis de Gravelines

La multitude d'aménagements réalisés cette dernière décennie sur le contexte Hem a permis de décloisonner un linéaire important du cours d'eau. L'arrivée des migrateurs amphihalins jusqu'à la Hem est cependant conditionnée par les manœuvres des ouvrages à la mer : l'écluse 63 (écluse Vauban) et l'écluse 63 bis de Gravelines.

Ces deux écluses ont été mécanisées en 2015 dans le but de favoriser la continuité écologique, mais les résultats se sont avérés peu satisfaisants. En effet, il en a découlé une impossibilité de manœuvrer les vannes levantes de l'écluse 63 bis en charge. Les plages d'écoulement libre étaient alors limitées à environ 5 minutes par marées (exceptionnellement jusqu'à 35 minutes) constituant une entrave sévère à la montaison des migrateurs. Les portes de l'écluse 63 servent quant à elles au maintien d'un niveau minimum d'eau dans le bassin Vauban et sont ouvertes à minima 75% du temps.

Des travaux de sécurisation d'urgence ont alors été entamés en 2019, et ce jusqu'en début d'année 2020, avant la future réalisation des aménagements de modernisation (demande d'autorisation validée le 16/11/2020) devant permettre d'assurer la continuité écologique (Institut intercommunale des Wateringues, 2020). Il est toutefois possible que ces travaux d'urgence aient pu constituer, lors de la phase d'exécution, un frein supplémentaire à la montaison des migrateurs amphihalins pour la saison 2019-2020, ce qui pourrait éventuellement apporter une explication supplémentaire à la non-détection du saumon atlantique et de la lamproie marine.

Nous n'avons cependant pas de moyens de vérifier que les remontées pour les autres migrateurs amphihalins se soient normalement déroulées cette saison, dans la mesures où les conditions hydrologiques n'ont pas permis d'assurer les suivis des nids de pontes, et que les analyses d'ADNe ne permettent pas de distinguer la truite de mer de la truite fario, ni la lamproie de rivière de la lamproie de Planer. Seule la montaison des anguillettes a été confirmée par la présence d'individus de l'année sur les trois stations du monitoring anguille.

En outre, il serait intéressant d'initier une nouvelle campagne de prélèvement d'ADN environnemental sur le contexte Hem à l'issue des travaux de modernisation de l'écluse 63 bis, en plus de la poursuite des suivis habituels.

#### V.3. Détection de l'écrevisse à pattes blanches

Les analyses monospécifiques menées sur l'amont du contexte Hem (Loquin et chevelu de la Hem), ont permis de mettre en évidence la présence de l'écrevisse à pattes blanches, espèce dont la présence n'a pas été détectée sur la Hem depuis plusieurs décennies, et de manière très anecdotique sur le département.

Il est probable que les individus détectés étaient situés à une distance assez proche en amont des prélèvements. En effet, les écrevisses, du fait de la présence de leur carapace chitineuse, libèrent beaucoup moins d'ADN que d'autres individus, comme les poissons par exemple (Tréguier et al., 2014), leur ADN est donc plus difficile à capter.

Ces résultats vont être le point de départ de campagnes d'investigations afin de valider la donnée d'une part, mais surtout de localiser et caractériser ces populations afin d'établir un état des lieux de l'espèce sur le bassin, en coordination avec l'OFB (Office français de la biodiversité), le SYMVAHEM (Syndicat mixte de la Vallée de la Hem) et le PNR des Caps et marais d'Opale.

#### **VI. Conclusion**

L'ADN environnemental est une méthode innovante, largement éprouvée au cours de cette dernière décennie, et en pleine expansion. Elle constitue un outil de détection et de veille environnementale formidable, dont la mise en œuvre est simple et non intrusive, permettant de produire des listes faunistiques, mais également de mettre en exergue la présence d'espèces exotiques ou d'espèces patrimoniales rares.

Dans la présente étude, l'utilisation de cette méthode a permis de mettre en évidence la présence de l'écrevisse à pattes blanches (*Austropotamobius pallipes*) sur le chevelu de la Hem. Cette espèce protégée n'était pas connue dans le secteur et sa découverte constitue une belle avancée, et devient le point de départ de nouvelles investigations.

Concernant le compartiment piscicole, 22 taxons différents ont été contactés, et il ressort des listes faunistiques obtenues, que la diversité est globalement plus importante que celle historiquement établie lors des différentes opérations de pêche à l'électricité. Malheureusement, ces prélèvements n'ont pas permis de détecter la présence de lamproie marine, ni de saumon atlantique.

La lamproie marine n'a pas été mentionnée sur la Hem depuis 2016 (observation de frayère), cependant ces résultats ne signifient pas pour autant son absence dans la Hem. Le faible effectif d'individus, l'élongation du linéaire colonisable par l'espèce, et l'absence d'amorce spécifique pour la détection de son ADN sont autant de facteurs pouvant expliquer la non-détection de la lamproie marine lors de cette campagne de prélèvement.

Au sujet du saumon, seuls des tacons ont été ponctuellement observés lors de pêche électrique sur la Hem. Sa non-détection par l'ADNe peut s'expliquer par un très faible effectif d'individus, et par un mauvais recrutement annuel lié aux crues hivernales, mais ne permet pas de statuer sur son absence dans le contexte Hem.

A noter également que les manœuvres de l'ouvrage à la mer (écluse 63 bis de Gravelines), par lesquelles les migrateurs amphibalins sont contraints de transiter, va fortement conditionner le nombre de remontées. Les travaux de sécurisation réalisés en « urgence » en 2019-2020 ont alors pu entrainer une perturbation de ces manœuvres, et de ce fait, de la montaison des grands migrateurs.

En définitive, ce protocole constitue un outil pertinent pour compléter les autres suivis en place, et son déploiement a permis l'apport de données biologiques intéressantes. Il pourrait à l'avenir être intéressant de programmer une nouvelle campagne de prélèvements suite aux travaux de modernisation de l'écluse 63 bis, lors d'une année sans crues hivernales impactantes sur l'efficacité de reproduction.

#### VII. Bibliographie & webographie

Articles L411-1 et 2 du Code de Environnement Arrêté du 18 janvier 2000 modifiant l'arrêté du 21 juillet 1983 relatif à la protection des écrevisses autochtones.

Collas M., Burgun V., Grandjean F., Poulet N., Penil C., 2014. La situation des écrevisses en France – Résultats de l'enquête nationale 2014, Onema. 21p.

Ficetola G.F., Miaud C., Pompanon F., Taberlet P., 2008. Species detection using environmental DNA from water samples. Biology Letters, 4:423-425.

Grost R.T., Hubert W.A., 1991. Description of brown trout redds in mountain stream. Trans. Am. Fish. Soc. 120, 582–588.

Hammonds J., Moore S.E., Kulp M.A., 1999. Drought and flood effects on fish communities in streams of the Great Smoky Mountains National Park. South. Div. Am. Fish. Soc. Chattanooga—Tennessee, 423–436.

Heggens J., Traaen T., 1988. Downstream migration and critical water velocities in stream channels for fry of four salmonid species. J. Fish Biol. 32, 717–728.

Holmes R., Hayes JW., Jiang W., Quarterman A., Davey LN., 2013. Emigration and mortality of juvenile brown trout in a New Zealand headwater tributary. Ecology of Freshwater Fish 23(4): 631-643.

Institution intercommunale des Wateringues, 2020. Travaux de sécurisation et de modernisation des écluses 63 (ou Vauban) et 63 bis de Gravelines (59). Dossier de demande d'autorisation environnementale MAI 2020. BIEF-Cariçaie. 252p.

Jean P., 2013. La détection des espèces par l'adn environnemental, 72p.

Laurent P.J., Suscillon M., 1962. Les écrevisses en France. Annales Station Centrale Hydrobiologie Appliquée, 9 : 333-395 + 2pl.

Namokel Y., Rigault B., Pinson-Tabary G., Crowyn G., 2020. Focus Biodiversité Marais Audomarois. Fédération du Pas-de-Calais pour la pêche et la protection des milieux aquatiques (FDAAPPMA 62). 384p.

ONEMA, 2016. L'enquête nationale sur les écrevisses. Fiche technique pour les acteurs du système d'information sur l'eau. 21p.

Parkinson D., Petit F., Perpinien G., Philippart JC., 1999. Habitats de reproduction des poissons et processus géomorphologiques dans les rivières à fond caillouteux. Essai de synthèse et applications a quelques rivières du bassin de la Meuse. Bulletin de la Société géographique de Liège, 36, 31-52

Pawlowski J., Apothéloz-Perret-Gentil L., Mächler E., Altermatt F., 2020: Utilisations de l'ADN environnemental pour la surveillance et l'évaluation biologiques des écosystèmes aquatiques. Directives. Office fédéral de l'environnement, Berne. Connaissance de l'environnement no 2010 : 80p.

PDPG 2.0 du Pas-de-Calais 2018/2022. Plan Départemental pour la Protection des milieux aquatiques et la Gestion des ressources piscicoles du Pas-de-Calais, 2018-2022. FDAAPPMA 62 ; 115p.

Pearsons T.N., Li H.W., Lamberti G.A., 1992. Influence of habitat complexity on resistance to flooding and resilience of stream fish assemblages. Trans. Am. Fish. Soc. 121 (4), 427–436

PLAGEPOMI du bassin Artois-Picardie 2015-2021. Plan de Gestion des Poissons Migrateurs du bassin Artois-Picardie. DREAL Hauts de France. 167p.

Poulet N., Basilico L., 2019. L'ADN environnemental pour l'étude de la biodiversité. État de l'art et perspectives pour la gestion. Agence française pour la biodiversité. Collection *Rencontres-Synthèse*. 72p.

Puissauve R., Collas, M., Grandjean F., 2015. Fiches d'information sur les espèces aquatiques protégées : Écrevisse à pattes blanches, Austropotamobius pallipes (Lereboullet, 1857). Service du patrimoine naturel du MNHN & Onema

RAVEL E., 2019, Suivi migrateurs par analyse d'ADNe environnemental sur la basse vallée de l'Hérault - Résultats 2019, 8p.

RAVEL E., HADDAD A., 2019, Suivi vidéo des passages de poissons migrateurs dans la passe à poissons de Bladier-Ricard sur le fleuve Hérault - Campagne 2019, 34p + annexes

SYMVAHEM et PNR des caps et marais d'Opale, 2019. La reconquête de la continuité écologique de la Hem 2010-2019 – Recueil d'expériences. 28p.

Taberlet P., Coissac E., Hajibabaei M., Rieseberg L.H., 2012. Environmental DNA. Molecular Ecology, 21:1789-1793.

Treguier A., Paillisson J-M., Dejean T., Valentini A., Schlaepfer M., Roussel J-M., 2014. Environmental DNA surveillance for invertebrate species: advantages and technical limitations to detect invasive crayfish *Procambarus clarkia* in freshwater ponds. Journal of applicated ecology 51, 871-879.

UICN Comité français, MNHN, SFI & AFB, 2019. La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitre Poissons d'eau douce de France métropolitaine. Paris, France. 16p.

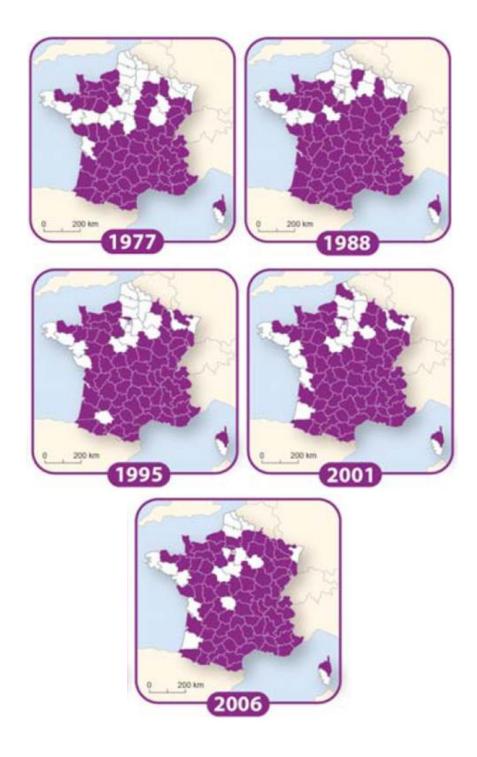
UICN France & MNHN, 2014. La Liste rouge des espèces menacées en France - Chapitre Crustacés d'eau douce de France métropolitaine. Paris, France.Photo

Verneaux J., 1977. Biotypologie de l'écosystème "eau courante". Détermination approchée de l'appartenance biotypologique.. C.R Acad Sc. Paris série D 284: pp 675-678

https://www.hydro.eaufrance.fr/

## VIII. Annexes

Annexe 1 : Evolution de la répartition de l'écrevisse à pattes blanches en France de 1977 à 2006. Source: ONEMA



Annexe 2 : Tableau récapitulatif des prélèvements – Fichier terrain transmis à Spygen

Code SPYGEN	Code du site	Nom du site	Date d'échantillonnage	Type de kit (Louche /Tuyau)	Réplicat terrain 1 ou 2 (si existant)	Durée filtration Volume filtré (Kit tuyau)	Volume filtré (Kit louche)	Nom du préleveur	Espèces / groupes taxonomiques recherchés
SPY202079	HEM-7	HEM-7	22/06/2020	Tuyau	1	30'01"	/	LMUNCH	Toutes espèces / APP
SPY202081	HEM-7	HEM-7	22/06/2020	Tuyau	2	30,	1	B.RIGAULT	Toutes espèces / APP
SPY202080	HEM-5	HEM-5	22/06/2020	Tuyau	1	30'26"	/	LMUNCH	Toutes espèces / APP
SPY202078	HEM-5	HEM-5	22/06/2020	Tuyau	2	30'23"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces / APP
SPY202073	HEM-6	HEM-6	22/06/2020	Tuyau	1	30'28''	1	ГМПИСН	Toutes espèces
SPY202074	HEM-6	HEM-6	22/06/2020	Tuyau	2	30'13"	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202076	HEM-4	HEM-4	22/06/2020	Tuyau	1	30'17"	/	LMUNCH	Toutes espèces
SPY202075	HEM-4	HEM-4	22/06/2020	Tuyau	2	30'12''	/	B.RIGAULT	Toutes espèces
SPY202069	HEM-3	HEM-3	23/06/2020	Tuyau	1	30'21"	/	LMUNCH	Toutes espèces
SPY202071	HEM-3	HEM-3	23/06/2020	Tuyau	2	30'19"	/	T.MORIN DE LA MARE	Toutes espèces
SPY202068	HEM-2	HEM-2	23/06/2020	Tuyau	1	30'13"	/	T.MORIN DE LA MARE	Toutes espèces
SPY202070	HEM-2	HEM-2	23/06/2020	Tuyau	2	30'29"	1	ГМПИСН	Toutes espèces
SPY202072	HEM-1	HEM-1	23/06/2020	Tuyau	1	30'	/	T.MORIN DE LA MARE	Toutes espèces
SPY202101	HEM-1	HEM-1	23/06/2020	Tuyau	2	30,	/	LMUNCH	Toutes espèces

# Annexe 3 : Détail des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le contexte Hem entre 1988 et 2018

6		5	Coordo	nnées	A	₩di	1.6
Cours d'eau	Commune	Date	(Lambert I	l étendu)	Organisme	Type de pêche	Informations complémentaires
		21/09/1988	585534	2658560	ONEMA	Par point - Embarquée	
		08/10/2013	585850	2663447	Hydrosphère	EPA 75 points - Embarquée	
Canal de	St- Folquin	04/09/2017	585850	2663447	Hydrosphère	EPA 75 points - Embarquée	
Mardyck	3t- Forquiti	19/09/2014	585489	2658465	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		07/09/2017	585489	2658465	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		09/09/2020	585489	2658465	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		19/09/2007	582986	2650366	ONEMA	Stratifiée par trait	
		24/09/2008	582986	2650366	ONEMA	Stratifiée par trait	
		13/10/2009	582986	2650366	ONEMA	Stratifiée par trait	
Meulestroom	Polincove	07/10/2010	582986	2650366	ONEMA	Stratifiée par trait	
		19/09/2014	583092	2650563	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		07/09/2017	583092	2650563	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		09/09/2020	583092	2650563	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		19/09/2007	582651	2649286	ONEMA	Stratifiée par trait	
		24/09/2008	582651	2649286	ONEMA	Stratifiée par trait	
	Recques-	13/10/2009	582651	2649286	ONEMA	Stratifiée par trait	
	sur-Hem	07/10/2010	582651	2649286	ONEMA	Stratifiée par trait	
		08/10/2015	582651	2649286	ONEMA	Complète - 2 passages	
		22/09/2016	582142	2648633	FD62	Pêche de sauvetage	
		19/06/2017	580416	2646543	AFB	Complète - 2 passages	SSM Hem : Station aval Leulenne
		21/06/2017	580219	2646368	AFB	Complète - 2 passages	SSM Hem : Station amont Leulenne
		19/09/2014	580501	2646553	FD62	Pêche spécifique anguille *	
	Tournehem	07/09/2017	580501	2646553	FD62	Pêche spécifique anguille *	
Hem	Tournenem	09/09/2020	580501	2646553	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		05/06/2013	579573	2645971	Priofish	Complète - 1 passage	Station amont moulin Delzoide
		10/10/2018	578067	2645176	Hydrosphère	Complète - 1 passage	Station aval Guémy
		20/06/2017	577934	2645188	AFB	Complète - 2 passages	SSM Hem : Station témoin Guémy
		19/09/2014	575965	2644293	FD62	Pêche spécifique anguille *	
	Clerques	07/09/2017	575965	2644293	FD62	Pêche spécifique anguille *	
		09/09/2020	575965	2644293	FD62	Pêche spécifique anguille *	
	Licques	04/06/2013	570082	2643346	Priofish	Complète - 1 passage	
	Surgues	11/06/2012	572041	2639806	Priofish	Complète - 1 passage	
	Surques	04/06/2013	572041	2639806	Priofish	Complète - 1 passage	
	Escoeuilles	28/09/2017	571420	2637865	Pedon	Complète - 1 passage	
		24/07/2013	574975	2642448	FD62	Complète - 2 passages	
Loquin	Audrehem	01/09/2017	574975	2642448	FD62	Complète - 2 passages	
		29/08/2019	574975	2642448	FD62	Complète - 2 passages	
	Audrehem	03/07/2015	575371	2642246	FD62	Complète - 2 passages	
Alquines	Journy	03/07/2015	576557	2640551	FD62	Complète - 2 passages	

<sup>\*</sup> Lors des pêches spécifiques anguilles (EPA30 ou 75 point) les autres taxons sont indiqués en terme de présence/absence

Annexe 4 : Résultats en termes de présence/absence des différentes opérations de pêche électrique réalisées sur le contexte Hem entre 1988 et 2018

					Canal de Mardyck					Meul	Meulestroom	_			Loquin		Alqu	Alquines
			St-1	St- Folquin	St	Ste-Marie-Kerque	Kerque			Pol	Polincove				Audrehem	m:	Audr. Journy	Journy
			1988	013 20	117 20	14 2017	7 2020	2007	2008	2009 2	2010 2	2014 20	2017 2020	0 2013	3 2017	2019	2015	2015
Brème commune		Abramis brama	×	×	×	×												
Ablette		Alburnus alburnus				×		×			×		×					
Anguille		Anguilla anguilla	×	^ ×	× ×	×	×	×	×	×	×			×	×	×	×	×
Loche Franche		Barbatula barbatula										×	×					
Brème bordelière		Blicca bjoernka		×														
Carrasin		Carassius sp.			_		×											
Loche de rivière		Cobitis taenia		×	×	×												
Chabot		Cottus gobio						×	×	×	×	×	¥	×	×	×	×	×
Carpe commune		Cyprinus carpio			<b>×</b>													
Brochet		Esox lucius			×	×	×			×								
Epinoche	Id∃	Gasterosteus aculeatus	×	×	×		×		×					×				
Goujon		Gobio sp.			×	×					×	×	×					
Gremille		Gymnocephalus cernua		×	×	×	×											
Lamproie de Planer		Lampetra planeri		×									×	×	×	×		
Lamproie ind.		Lampetra sp.										×						
Vandoise		Leuciscus leuciscus			×			×	×	×	×		×					
Truite Arc-en-ciel	TAC	Onchorynchus mykiss																
Perche fluviatile	PER	Perca fluviatilis	×	^ ×	×	×	×	×	×	×	×	×	×					
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus						×	×	×	×	×	×					
Flet	FLE	Pleuronectidae			×	_												
Epinochette	EPT	Pungitus pungitus																
Gardon	GAR	Rutilus rutilus	×	^ ×	×	×	×	×	×	×		×	×					
Sandre	SAN	Sander lucioperca		×			×											
Saumon	SAT	Salmo salar							×									
Truite Fario	TRF	Salmo trutta fario						×	×	×	×	^ ×	×	×	×	×	×	×
Truite de mer		Salmo trutta trutta				_			×									
Rotengle		Scardinius erythrophthalmus	×	^ ×	×		×											
Chevesne		Squalius cephalus				_												
Tanche		Tinca tinca	×			×	×											

												웊	Hem									
											Tourn	ournehem -					-				H	
				Z E E	kecdnes-sur-	s ur-nem		Av.leul	Am.leul	Tour.		<b>Fournehem</b>		Guémy	Guémy		cierques		ncdnes	sanbuns		ESCOE.
			2007	2008 2	2009 2010	10 2015	2016	2017	2017	2013	2014	2017	2020	2018	2017	2014	2017	2020	2013	2012 2	2013	2017
Brème commune	BRE	Abramis brama																				
Ablette	ABL	Alburnus alburnus																				
Anguille	ANG	Anguilla anguilla	×	×			×	×	×	×	×	×	×	×	×				×			
Loche Franche	LOF	Barbatula barbatula			×	×	×	×	×		×	×		×								
Brème bordelière	BRB	Blicca bjoernka																				
Carrasin	CAS	Carassius sp.					×	×														
Loche de rivière	LOR	Cobitis taenia																				
Chabot	CHA	Cottus gobio	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
Carpe commune	000	Cyprinus carpio																				
Brochet	BRO	Esox lucius																				
Epinoche	EPI	Gasterosteus aculeatus				×	×					×		×	×	×					×	
Goujon	GOU	Gobio sp.		×				×				×										
Gremille	GRE	Gymnocephalus cernua																				
Lamproie de Planer		Lampetra planeri		×		×	×						×					×	×			
Lamproie ind.	LPx	Lampetra sp.						×	×					×	×							
Vandoise	VAN	Leuciscus leuciscus				_			×													
Truite Arc-en-ciel	TAC	Onchorynchus mykiss					×															
Perche fluviatile	PER	Perca fluviatilis				_																
Vairon	VAI	Phoxinus phoxinus		×			×	×	×		×	×	×	×								
Flet	FLE	Pleuronectidae																				
Epinochette	EPT	Pungitus pungitus					×															
Gardon	GAR	Rutilus rutilus							×													
Sandre	SAN	Sander lucioperca																				
Saumon	SAT	Salmo salar		×											×							
Truite Fario	TRF	Salmo trutta fario		×	×		×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×		×		
Truite de mer	TRM	Salmo trutta trutta				×	×															
Rotengle	ROT	Scardinius erythrophthalmus																				
Chevesne	CHE	Squalius cephalus							×													
Tanche	TAN	Tinca tinca																				